

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19443

研究課題名(和文) 肥満におけるアディポカイン分泌異常による高血圧・腎障害発症機序の解明

研究課題名(英文) Exploring the mechanism of obesity related abnormal adipokine - induced hypertension and renal impairment

研究代表者

河原崎 和歌子 (Kawarazaki, Wakako)

東京大学・先端科学技術研究センター・特任助教

研究者番号：50424594

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：肥満は増加傾向にあり、高血圧や心血管病及び慢性腎臓病発症と密接に関連している。肥満が高血圧を来しやすい原因として、血圧に対する食塩感受性が亢進していることが臨床試験で示されているがその機序は不明である。申請者らは、肥満に特有のアディポカイン異常が腎尿細管におけるナトリウム輸送体の異常亢進を惹起して食塩感受性高血圧発症の原因になると推察した。食塩感受性高血圧モデルラットの肥満型と非肥満型を比較において、同量の食塩摂取でも肥満型で高血圧及び腎障害を生じやすいことを認め、肥満型では高食塩摂取時に腎尿細管のあるナトリウム輸送体異常が生じていることを発見し、原因となるアディポカインの異常を検討している。

研究成果の概要(英文)：The prevalence of obesity has increased markedly and it is deeply associated with cardiovascular, metabolic, and renal diseases. Some clinical studies have suggested that the salt-sensitivity of blood pressure is enhanced in obese people, and it may be the reason why obese people are prone to develop hypertension, but the mechanism is still unknown. We hypothesized that abnormality of adipokine specific to obesity may induce the aberrant activation of renal tubular sodium transporters and cause salt-sensitive hypertension. In the comparison of obese and lean salt-sensitive model rats, we demonstrated the same dose of sodium was more likely to develop hypertension and renal impairment in obese rats, and they accompanied abnormality of the renal sodium transporter. Now, we are examining how the abnormality of the adipokines specific to the obesity cause enhanced salt-sensitivity in obese subjects.

研究分野：腎臓・高血圧

キーワード：肥満 高血圧 食塩感受性 Klotho 腎尿細管 ナトリウム輸送体

1. 研究開始当初の背景

1) 肥満は増加傾向にあり、高血圧や心血管病及び慢性腎臓病(CKD)発症と密接に関連している。

現在、世界中で肥満が増え続けており深刻な社会問題となっている。肥満では心血管疾患(CVD)、がん、2型糖尿病、変形性関節症、CKD等を発症しやすくなり(Lancet 2012; 380: 2224-60)、肥満は単独で、更に2型糖尿病や高血圧、メタボリックシンドローム(MetS)と深く関連して、CKDの危険因子となり、CVDとともに生命予後を規定する(N Eng J Med, 355(8):763-778, 2006)。また、肥満は高率に高血圧を合併し(Am J Hypertens, 14(6 Pt 2):103S-115S, 2001)、高血圧を合併した肥満ではMetSやCKDを来しやすい(J Am Soc Nephrol, 17(12 Suppl 3):S194-200, 2006)。肥満に高血圧を来しやすい原因として、肥満では血圧に対する食塩感受性が亢進していることが臨床試験で示されているが(N Engl J Med, 321: 580-5, 1989)、その機序は不明である。

2) 肥満の内臓脂肪から分泌されるアディポカイン異常は高血圧・腎障害と関連している。

脂肪細胞は、種々の生理活性物質であるアディポサイトカインを合成、分泌して生体の代謝活性を調節している。肥満白色脂肪細胞からはアディポカイン合成、分泌の異常が認められる。例えば2型糖尿病や肥満者の血漿では、レプチンが上昇し、腎保護的に働くアディポネクチンは低下している。レプチンは細胞増殖や線維化を促進するTGF- β 1の発現を刺激し、腎線維化に寄与する。レプチンは急性作用では血管内皮からのNO産生を介して尿細管のNa⁺-K⁺-ATPase活性を抑制するが、肥満の様な慢性の高レプチン血症では交感神経亢進やNO産生低下により、逆にNa⁺-K⁺-ATPase活性が増強されて、高血圧を招く。その他肥満では血中のレジスチンやビスファチンなどの増加も認められ、炎症や酸

化ストレス亢進などを介してCKD進行と強く相関している。また、脂肪細胞は、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系(RAAS)の全てのコンポーネントを発現する他、副腎からのアルドステロン分泌を促進するアルドステロン放出因子(ARF)を分泌し、ミネラルコルチコイド受容体(MR)を介した足細胞障害に関与する(J Am Soc Nephrol, 17(12): 3438-46, 2006)。このように肥満においてはTNF- α やPAI-1、IL-6、CRP等、炎症やインスリン抵抗性を惹起、増強するアディポサイトカインが増加しており、CKD発症と相関しているが、詳細な発症機序は不明な点が多い。

3) 脂肪細胞蓄積過程ではアディポカイン制御因子のエピジェネティクス異常が認められる。

脂肪細胞分化のマスターレギュレーターであるPeroxisome proliferator-activated receptor- γ (Ppar- γ)は、脂肪蓄積やアディポカイン分泌を制御している。In vitroの既報では脂肪の蓄積と共に、アディポカイン分泌異常が認められるが、Ppar- γ 遺伝子の発現が亢進しており、プロモーター領域のヒストンアセチル化が関わっていることが報告されている(Am J Physiol Endocrinol Metab, 1;307(3):E335-44, 2014)。

4) 肥満高血圧の原因は腎尿細管ナトリウム再吸収機構異常にある。

肥満は高インスリン血症とインスリン抵抗性、交感神経系およびRAAS亢進を病態背景に持ち、これらが高血圧発症に大きく関わると考えられている。一般に尿細管のNa⁺再吸収促進因子としてアンジオテンシンIIやインスリン、アルドステロンなどが知られているが、肥満高血圧モデル動物の既報では、肥満における高インスリン血症が腎尿細管のNa⁺再吸収促進に関わる可能性が示されている。尿細管ヘンレ係蹄(太い上行脚)におけるNa⁺-K⁺-2Cl⁻共輸送体(NKCC2)活性の亢

進や (Am J Physiol Renal Physiol, 1;307(1):F96-F106, 2014)、遠位尿細管におけるサイアザイド感受性 $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ 共輸送体 (NCC) 活性の亢進が認められ (Clin Sci, 123(11):635-47, 2012)、後者ではインスリンが WNK4 抑制を介して NCC を活性化していた。WNK1 や WNK3、WNK4 はインスリンの標的分子であり、アルドステロンの下流で NCC や上皮性 Na^+ チャネル (ENaC) を活性化し、食塩感受性高血圧発症に関わると考えられ、人の肥満高血圧でも ENaC 活性化が関与している事が示されている (J Clin Hypertens, 16(1):47-53, 2014)。しかしながら、肥満における食塩摂取時の腎尿細管ナトリウム輸送体の異常がどのように高血圧を発症し、どのアディポカイン異常が関連するかは未だ報告されていなかった。

2. 研究の目的

肥満では食塩感受性が亢進して、食塩摂取による高血圧や腎障害を来しやすいこと、原因が異常アディポカイン刺激による腎尿細管の Na^+ 再吸収や腎炎症の亢進にあること、責任アディポカイン及び制御因子を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

1) 食塩感受性高血圧及び腎障害を発症する肥満モデルラットを確立し、これら病態に關与する腎尿細管 Na^+ 再吸収チャネルを同定する。

肥満モデルラットに飲水による食塩負荷を行い、肥満で有意に血圧上昇、腎障害が生じるモデルを確立した。さらにモデルラットの腎臓を採取し、尿細管 Na^+ チャネル、すなわち近位尿細管の Na^+/H^+ 交換輸送体 (NHE-3) 及び $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ 共輸送体 (NBCe1) 系、ヘンレループの NKCC2、遠位尿細管の NCC、ENaC 等の遺伝子及び蛋白発現 (全腎、膜分画、リン酸化) を調べ、肥満食塩負荷群で発現が上昇しているものを同定した。得られた候補 Na^+ 輸

送体に対する阻害薬 (NKCC2 に対するフロセミド、NCC に対するハイドロクロロサイアザイド (HCTZ)、ENaC に対するトリアムテレンなど) を投与し、降圧、腎障害抑制の効果を検証した。

2) 腎尿細管の責任 Na^+ チャネルが脂肪細胞由来のアディポカインにより促進される事を示す

食塩感受性肥満ラットの血清中で有意に上昇しているアディポカインを調べた。また、NCC や ENaC など目的の Na^+ 輸送体を発現した尿細管細胞株を用いて、肥満または非肥満型ラットから採取した血清及び目的アディポカインの添加にて Na^+ 輸送体の遺伝子発現や蛋白発現への変化を比較定量する (Quantitative realtime PCR 法、Western blotting 法)。

4. 研究成果

申請者らは肥満者では、炎症やインスリン抵抗性を惹起、増強するアディポサイトカインが増加していることに注目し、肥満に特有のアディポカイン異常が腎尿細管における Na^+ 輸送体の異常を惹起して食塩感受性高血圧発症の原因になると推察し、解析を行った。まず、食塩感受性高血圧モデルラットの肥満型と非肥満型を比較において、同量の食塩を負荷しても、肥満型で高血圧及び腎障害を生じやすいこと、すなわち血圧の食塩感受性が亢進し、食塩依存性の腎障害が生じやすいことを発見した。また、肥満型では高食塩摂取時に腎尿細管のある Na^+ 輸送体異常が生じていることを認めた。さらに、肥満において、高食塩摂取時に異常活性化を示す腎尿細管の責任 Na^+ 輸送体を活性化しうるアディポカイン異常の検討をすすめている。また、様々なモデルラットやマウスを用いて、食塩感受性高血圧に関連する血中のアディポカインを含めたホルモンや分子を検討する過程において、抗加齢因子 $-klotho$ が食塩感受性高血圧と強い関連を示すことが分かった。腎

および血液中の β -Klotho 発現が低下したマウスに高食塩食を与えると高血圧を示すが、その原因として血管平滑筋で Rho の異常活性化が生じていることが分かった。現在さらにその分子機序につき検討を行っている。また、 β -Klotho は肥満に対して防御的な役割を示すことが報告されていることから、肥満高血圧における Klotho の役割についての研究を計画している。肥満や加齢において血圧の食塩感受性が亢進する分子機序は未解明であり、本研究により、新たな治療標的分子を解明することを目標としている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計8件)

- 1) Watanabe A, Marumo T, Kawarazaki W, Nishimoto M, Ayuzawa N, Ueda K, Hirohama D, Tanaka T, Yagi S, Ota S, Nagae G, Aburatani H, Kumagai H, Fujita T. Aberrant DNA methylation of pregnane X receptor underlies metabolic gene alterations in the diabetic kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2018; 314: F551-F560. 査読有
- 2) Hirohama D, Ayuzawa N, Ueda K, Nishimoto M, Kawarazaki W, Watanabe A, Shimosawa T, Marumo T, Shibata S, Fujita T. Aldosterone Is Essential for Angiotensin II-Induced Upregulation of Pendrin. *J Am Soc Nephrol*. 2018 ; 29: 57-68. 査読有
- 3) Ueda K, Nishimoto M, Hirohama D, Ayuzawa N, Kawarazaki W, Watanabe A, Shimosawa T, Loffing J, Zhang MZ, Marumo T, Fujita T. Renal Dysfunction Induced by Kidney-Specific Gene Deletion of Hsd11b2 as a Primary Cause of Salt-Dependent Hypertension. *Hypertension*. 2017; 70: 111-118. 査読有
- 4) Kawarazaki W, Fujita T. The Role of Aldosterone in Obesity-Related

Hypertension. *Am J Hypertens*. 2016; 29: 415-23. 査読有

5) Ayuzawa N, Nagase M, Ueda K, Nishimoto M, Kawarazaki W, Marumo T, Aiba A, Sakurai T, Shindo T, Fujita T. Rac1-Mediated Activation of Mineralocorticoid Receptor in Pressure Overload-Induced Cardiac Injury. *Hypertension*. 2016; 67: 99-106. 査読有

6) Marumo T, Yagi S, Kawarazaki W, Nishimoto M, Ayuzawa N, Watanabe A, Ueda K, Hirahashi J, Hishikawa K, Sakurai H, Shiota K, Fujita T. Diabetes Induces Aberrant DNA Methylation in the Proximal Tubules of the Kidney. *J Am Soc Nephrol*. 2015; 26: 2388-97. 査読有

7) 河原崎和歌子、藤田敏郎、5. 食塩と高血圧研究の最前線、実験医学増刊「先制医療」Vol.33 No.7 2015、P1078-1084、査読無

8) 河原崎和歌子、「アルドステロンブロッカーのエビデンスと今後の期待される展開」、血圧、Vol.24 No.7 2017、P489-487、査読無

〔学会発表〕(計5件)

1) 河原崎和歌子、「抗加齢因子 Klotho 発現低下に伴う食塩感受性高血圧発症機序の解明」、第59回日本腎臓学会学術総会、2016年

2) 河原崎和歌子、「抗加齢因子 Klotho の発現低下は腎 mTORC1 の活性化を介して食塩感受性高血圧を惹起する」、第60回日本腎臓学会総会、2017年

3) 河原崎和歌子、「加齢と食塩感受性高血圧～抗加齢因子 Klotho の発現低下は RhoA 活性化による血管収縮を惹起する～」、第40回日本高血圧学会総会、シンポジウム7「食塩感受性の成因に迫る」、2017年

4) 河原崎和歌子、「ミネラルコルチコイド受容体活性化による食塩感受性高血圧と臓器障害発症機序の検討」、CVMW 心血管代謝週間 2017、シンポジウム1「ミネラルコルチ

コイド受容体と心血管疾患』、2017年

5) Wakako Kawarazaki, Invited lecture,
"Vascular Rho Kinase and RAS in
Ageing-Associated Salt-Sensitive
Hypertension", Gordon Research Conference,
The RAAS: Emerging Interactions with the
Microbiome, Immune and Nervous System,
2018, Ventura, CA, US

〔その他〕

ホームページ: 東京大学・先端科学技術研究
センター・臨床エピジェネティクス講座

<http://www.c-epi.rcast.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河原崎和歌子 (KAWARAZAKI, Wakako)

東京大学・先端科学技術研究センター・特
任助教

研究者番号: 50424594